

THESIS

BONN

1967

Experimentelle Untersuchungen an Ratten über die homologe
Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ gegen einen
wäßrigen Extrakt aus verbrannter Rattenhaut auf

nicht verbrannte Tiere

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt von

Johannes Graf von Westphalen

aus

Teplitz-Schönau

Bonn 1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Experimentelle Untersuchungen an Ratten über die homologe
Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ gegen einen
wäßrigen Extrakt aus verbrannter Rattenhaut auf
nicht verbrannte Tiere

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt von

Johannes Graf von Westphalen

aus

Teplitz-Schönau

Bonn 1967

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

Referent: Prof. Dr. O. Haferkamp

Korreferent: Prof. Dr. H. Hamperl

Tag der mündlichen Prüfung: 20.10.1967

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn

Direktor: Professor Dr. H. Hamperl

I n h a l t

A. Einleitung.

B. Material und Methodik.

I. Erzeugung einer Allergie vom verzögerten Typ bei Ratten nach Hautverbrennung von 20% der Körperoberfläche.

1. Verbrennung.
2. Antigenherstellung.
3. Hautteste mit Kontrollen.
4. Ablesung der Hautreaktionen.

II. Homologe Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ gegen Verbrennungsantigen aus Hautextrakten von hautverbrannten Ratten auf nicht hautverbrannte Ratten durch lebensfähige Milz- und Peritonealzellen.

1. Gewinnung lebensfähiger Peritonealzellen von hautverbrannten Ratten.
2. Gewinnung lebensfähiger lymphoider Milzzellen von hautverbrannten Ratten.
3. Zellzahlbestimmung.
4. Bestimmung der Lebensfähigkeit der Zellen im Eosin-Test.
5. Injektion der lebensfähigen Milz- und Peritonealzellen und des autologen Verbrennungsantigen.
6. Kontrollen.

C. Ergebnisse.

D. Besprechung.

E. Zusammenfassung.

A. Einleitung.

Klinik und Forschung haben in den letzten Jahren dem veränderten immunologischen Verhalten des Organismus nach schweren Verbrennungen in zunehmendem Maße ihre Aufmerksamkeit geschenkt, zumal trotz intensiver antibiotischer Behandlung die Ursache der Spättodesfälle bei Verbrennungen von über 50% der Körperoberfläche in einer Septicopyämie zu finden ist (ARTZ, 1963).

Die bei Verbrennungen auftretenden Frühschäden scheinen durch den begleitenden Schock ausreichend erklärt zu sein (ALLGOWER und SIEGRIST, 1957). Diese Erklärung reicht jedoch nicht aus, um die eigentliche Verbrennungskrankheit und die mit ihr zusammenhängenden Todesfälle pathogenetisch verständlich zu machen. Auf eine gewisse Analogie zwischen Anaphylaxie und Verbrennungsschäden deuteten schon HEYDE und VOGT (1913) hin; für eine immunologische Reaktion schien auch ein Komplementschwund im Blut nach Verbrennungen zu sprechen (PEYER, 1923).

1956 deckte FEODOROV im Blut verbrannter Patienten 14 Tage nach der Verbrennung Antikörper gegen sog. Toxine aus verbrannter Haut dieser Patienten auf. PACKOVA und DOLEZALOVA beschrieben 1965 mittels Kollodium-Partikel-Agglutination Antikörper sogar gegen nicht verbrannte Haut von verbrannten Patienten. Schließlich glaubten RUDINCAJA und SKURKOVIC (1962) auf Grund elektrophoretischer Untersuchungen Verbrennungsantikörper in die Gamma- oder Beta-Globulinfraktion verlegen zu können.

1963 gelang dann HAFERKAMP u. Mitarb. der Nachweis von humoralen Antikörpern gegen einen wässrigen Extrakt aus verbrannter Kaninchenhaut im Tierversuch nach umschriebenen Verbrennungen am Kaninchen. Nach intradermaler Injektion derartiger Extraktantigene fanden HAFERKAMP u. Mitarb. (1965) eine Hautreaktion, die der Tuberkulinreaktion zeitlich und morphologisch gleichzustellen war. Die Bereitschaft zu solch einer verzögerten Reaktion nach Verbrennung

konnten sie auch mittels lebensfähiger lymphoider Milzzellen auf gesunde, nicht hautverbrannte Tiere übertragen. Die Natur eines solchen Verbrennungsantigens konnte dabei allerdings nicht geklärt werden; in Anlehnung an JEANJEAN und SIMONART (1962) konnte man dieses Antigen am ehesten von bakteriellen Infektionen der Verbrennungswunde ableiten. Untersuchungen von VOGEL u. Mitarb. (1966) ergaben dann durch Absorptionsversuche mit humoralen Antikörpern gegen einen wässrigen Extrakt aus verbrannter Kaninchenhaut, daß diese Antikörper sich mit Bakterien, die von verbrannten Hautstellen und aus den Extrakten aus verbrannter Haut (sog. Verbrennungs-Antigen) gezüchtet worden waren, nicht absorbieren ließen. Dies war ein Hinweis auf eine gewisse Spezifität der verbrennungsabhängigen Antikörper insofern, als die Antikörper offenbar nichts mit einer bakteriellen Infektion der Verbrennungswunde zu tun haben.

Ziel dieser Arbeit war es, die Untersuchungen von HAFERKAMP u. Mitarb. (1963) statt an Kaninchen, an Ratten zu wiederholen, dabei aber nicht nur die Spezifität des Verbrennungsantigens auszutesten, sondern auch die System-Übertragung durch Milz- und Peritonealzellen von den verbrannten Tieren durchzuführen. Bei der System-Übertragung nach LANDSTEINER und CHASE (1942) werden die Zellen (gepoolte lymphoide Zellen mehrerer Spender bei einem nicht sensibilisierten Empfänger) intravenös übertragen und das entsprechende Antigen intradermal injiziert. Im Gegensatz dazu wandten HAFERKAMP u. Mitarb. (1965) die Methode von METAXAS und METAXAS-BUEHLER (1948) an, bei der die zu übertragenden Zellen (von jeweils einem Spender bei einem nicht sensibilisierten Empfänger) intradermal, das Antigen aber intravenös injiziert wird.

B. Material und Methodik.

I. Erzeugung einer Allergie vom verzögerten Typ bei Ratten nach Hautverbrennung von 20% der Körperoberfläche.

Es wurden insgesamt 110 männliche Wistar-Ratten eigener Züchtung im Alter von 2 1/2 - 3 Monaten und einem Gewicht von 250 - 300 g verwandt. Die Ernährung beschränkte sich auf Altromin-Standarddiät

für Versuchstiere und Wasser ad libitum.

1. Verbrennung:

Bei 70 Tieren (Tier Nr. 426 - 495) wurden 24 Stunden vor der Verbrennung der Rücken und die Flanken in Äthernarkose mit einer Äskulap-Rasiermaschine geschoren. Am folgenden Tag wurden 20% der Körperoberfläche in tiefer Äthernarkose nach der von HAFFERKAMP u. Mitarb. (1963) angegebenen Methode verbrannt.

Die Berechnung der Körperoberfläche wurde nach der Formel von LEE (1929) vorgenommen: $S = k \times W^n$, wobei S die gesamte Körperoberfläche in qcm darstellt, k eine Konstante für Ratten von 12,62 ist, W das Gewicht in Gramm und $n = 2/3$ (Exponent). Gleichzeitig mit der Verbrennung erhielten alle Tiere 0,1 ml komplettes Freund'sches Adjuvans in die linke hintere Fußsohle. Das histologische Bild eines nach 24 Stunden aus der verbrannten Haut entnommenen Hautzylinders entsprach mit seinen bis in die Subcutis reichenden Koagulationsnekrosen vollauf dem Bild einer Verbrennung dritten Grades.

Während der ersten 24 Stunden verstarben 6 Tiere (Tier Nr. 432, 436, 447, 452, 456, 473).

2. Antigenherstellung:

24 Stunden nach der Verbrennung wurde bei den verbrannten Tieren je ein Hautstück operativ entfernt und auf -38 Grad Celsius tiefgefroren. Anschließend wurden die tiefgefrorenen Hautstücke durch eine X-Presse (Fa. BIOX, Nacka, Schweden) mit einem Druck von 15 - 20 atü gepreßt, um eine maximale Zerreißung des Gewebes zu erreichen. Anschließend wurde dann bei 4000 U.p.M. im Zellhomogenisator (Fa. BRAUN, Melsungen) 60 sec. lang homogenisiert. Danach wurde das Homogenat bei 10.000 U.p.M. 30 Min. lang in der Ultrazentrifuge abzentrifugiert. Der Eiweißgehalt des Überstandes schwankte bei den einzelnen Hautstücken zwischen 0,4 - 0,6 g %, gemessen mit dem BECKMAN-Photometer bei 280 .

Um eine Standardkonzentration der im Eiweißgehalt unterschiedlichen Antigenlösungen zu erhalten, wurden diese zuerst 24 Std. gegen Aqua dest. dialysiert und dann 14 - 18 Std. gefriergetrocknet. Von dem getrockneten Antigensubstrat wurden dann je 10 mg in 100 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Von jedem Homogenat wurde auf einem Blutagarnährboden ein bakteriologischer Ausstrich gemacht. Die Ablesung der Kulturen erfolgte nach 24 Std. Alle Kulturen waren bis auf drei (Nr. 435, 445, 428) steril. Die unsterilen Kulturen zeigten ein Wachstum von *Staphylokokkus aureus*.

Um die nun in 10 mg%iger Konzentration vorliegenden Homogenate keimfrei zu halten, wurde jedem ein Tropfen Methiolat (1:100) beigegeben. Die Gefäße wurden mit sterilen Gummipfropfen verschlossen und bei +4 Grad C. aufbewahrt.

In der oben angegebenen Weise wurden zur Kontrolle noch folgende Antigene hergestellt und zu Poolextrakten verarbeitet:

a) Poolextrakt aus normaler Haut:

Bei 5 gesunden, nicht verbrannten Ratten wurde ein Hautstück von 2 x 1 cm Größe entfernt und zur Antigenherstellung verwandt.

b) Poolextrakt aus normalem Nierengewebe:

Bei 5 gesunden, nicht verbrannten Tieren wurden die Nieren steril entnommen und zur Antigenherstellung verwandt.

c) Poolextrakt aus nekrotischem Nierengewebe:

Bei 5 gesunden, nicht verbrannten Tieren wurden operativ beide Nierenarterien unterbunden. Nach 24 Std. wurden die nekrotischen Nieren möglichst steril entnommen und zur Antigenherstellung verwandt.

d) Poolextrakt aus allen verbrannten Hautstücken:

Je ein ml der Homogenate der verbrannten Hautstücke wurden gemischt und als Pool-Antigen verwandt.

3. Hautteste mit Kontrollen.

21 Tage nach der Verbrennung und Injektion von komplettem Freund'schen Adjuvans wurde bei 30 Tieren (Tier Nr. 426-455) 0,1 ml der 10mg%igen Lösung des autologen Verbrennungsextraktes steril intradermal rechts und links in die Flanke injiziert.

In gleicher Weise wurden die zur Kontrolle hergestellten Antigenextrakte folgenden Tieren injiziert: 10 Tieren (Tier Nr. 457-466) Poolextrakt aus normaler Haut; 10 Tieren (Tier Nr. 469-478) Poolextrakt aus normalem Nierengewebe, 10 Tieren (Tier Nr. 479-488) Poolextrakt aus nekrotischem Nierengewebe, 10 Tieren (Tier Nr. 489-498) Poolextrakt aus allen verbrannten Hautstücken, 5 gesunden, nicht verbrannten Tieren (Tier Nr. 1146-1150) Poolextrakt aus allen verbrannten Hautstücken.

4. Ablesung der Hautreaktionen:

Die Reaktion an den Injektionsstellen wurde nach 3, 6, 12, 15, 18, 21 und 24 Std. kontrolliert. Es zeigte sich eine langsam zunehmende Induration der Injektionsstelle, jedoch bildete sich kein deutliches Erythem aus. Da bei Ratten die makroskopische Ablesung der Reaktion vom verzögerten Typ oft unsicher ist (SOBBE u. Mitarb., 1966), wurden alle Reaktionsstellen histologisch untersucht und dann erst befundet. 24 Std. nach der intradermalen Injektion wurde bei allen Tieren ein Hautstück aus der linken Flanke entfernt, in dessen Zentrum sich die markierte Injektionsstelle befand. Nach 48 Std. wurde in analoger Weise an der rechten Flanke verfahren. Die operativ entfernten Hautstückchen wurden in Formalin fixiert, um anschließend daraus histologische Schnitte herzustellen.

Die Bewertung der indurierten Hautstellen geschah mikroskopisch nach folgenden Kriterien (SOBBE u. Mitarb., 1966):

0 = keine Reaktion entsprechend dem verzögerten Typ.

+ = vereinzelte Venen und Venolen sind mit einem dichten Mantel aus monozytären Zellen umgeben.

- ++ = wie bei +, jedoch mit einer beginnenden diffusen monozytären Zellinfiltration und ödematös aufgelockerter Cutis und Subcutis.
- +++ = wie bei +, jedoch mit dichter diffuser monozytärer Zellinfiltration in ödematöser Cutis und Subcutis, stellenweise untermischt mit eosinophilen Leukozyten und Mastzellen. Hier und da findet man fast granulomartige und zellige Infiltrate.
- L = überwiegend leukozytäre Infiltration mit perivaskulärer, teils auch diffuser Infiltration von neutrophilen, basophilen und eosinophilen Granulozyten und nur vereinzelt Monozyten und Lymphozyten.

II. Homologe Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ gegen Verbrennungsantigen aus Hautextrakten von hautverbrannten Ratten auf nicht hautverbrannte Ratten durch lebensfähige Milz- und Peritonealzellen.

1. Gewinnung lebensfähiger Peritonealzellen von hautverbrannten Ratten:

4 Monate und 11 Tage nach der Verbrennung wurden 20 hautverbrannten Tieren 10 ml einer Muschelglykogenlösung (0,02 mg/ml) intraperitoneal injiziert. 48 Stunden später wurden den gleichen Tieren je 20 ml Hank'scher Lösung (auf 1000 ml Aqua dest: 80g NaCl, 4g KCl, 1 g MgCl - 6H₂O, 1,4g CaCl wasserfrei, 1g Mg SO₄ - 7 H₂O, 0,6g Na₂HPO₄, 0,6g KH₂PO₄, 10g Glukose) mit einem Zusatz von 3% normalem Rattenserum und 5 Einheiten Heparin/ml (Deutsche Hoffmann-La-Roche A.G.) ebenfalls intraperitoneal injiziert. Die Flüssigkeit wurde einige Minuten in der Bauchhöhle belassen, währenddessen das Abdomen leicht durchmassiert wurde. Anschließend wurden die Tiere getötet, die Bauchhöhle möglichst steril eröffnet und die darin befindliche Flüssigkeit entnommen. Diese Bauchhöhlenflüssigkeit wurde bei 1000 U.p.M. abzentrifugiert, 20 Min. lang, und anschließend dreimal in Hank'scher Lösung gewaschen. Die Umdrehungszahl von 1000 U.p.M. wurde mit dem Handtachometer Jaquet Typ: 630 (Fa. Ernst SCHÜTT, Göttingen) genauest gemessen, um eine Zerstörung der Zellen zu vermeiden.

2. Gewinnung lebensfähiger lymphoider Milzzellen von hautverbrannten Ratten:

Gleichzeitig mit der Bauchhöhlenflüssigkeit wurde bei allen 20 verbrannten Ratten die Milz möglichst steril entfernt. Je 5 Milzen wurden zweimal durch eine Embryonenpresse geschickt und der Gewebsbrei mit 20 ml Trypsinlösung (25%ig) 5-10 Minuten lang aufgeschwemmt. Nach Absetzen des zellreichen Überstandes wurde die Flüssigkeit bei 1000 U.p.M. abzentrifugiert und die Zellen anschließend in Hank'scher Lösung gewaschen. Die Aufschwemmung wurde insgesamt 6mal wiederholt.

3. Zellzahlbestimmung:

In einer Thomae-Zellkammer wurde die Anzahl der Zellen bestimmt. Die Zellzahl der in einem Gefäß gesammelten Flüssigkeit aus den Bauchhöhlen aller Tiere betrug 10150 Zellen/mm², die des Milzhomogenates aller Milzen 8200 Zellen/mm².

4. Bestimmung der Lebensfähigkeit der Zellen mit dem Eosin-Test:

In einer Leukopipette wurden 0,5 ml der Zellsuspension ad 1,1 mit Eosinlösung 1:1000 in NaCl aufgezo-gen. Die Bestimmung des Prozentsatzes der abgestorbenen und tiefrot gefärbten Zellen wurde im Zellzähler durchgeführt. Es ergaben sich bei der Bauchhöhlenflüssigkeit 2,02% und bei der Milzsuspension 3,1% nicht lebensfähiger Zellen.

5. Injektion der lebensfähigen Milz- und Peritonealzellen und des autologen Verbrennungsantigens:

Die Suspensionen der gepoolten Milz- und Peritonealzellen wurden in einem Gefäß gesammelt und so rücksuspendiert, daß in 1,5 ml der nun entstandenen Suspension ca. 250.000.000 Zellen vorhanden waren. 5 gesunden Ratten, die vorher mit allen zur Verfügung stehenden

Antigenen ausgetestet worden waren und keinerlei Reaktion gezeigt hatten, wurden je 1,5 ml dieser Suspension intravenös in die Schwanzvene injiziert. 24 Stunden später wurde diesen Tieren 0,1 ml einer 10mg%igen Autoantigenlösung steril intradermal in die Rückenhaut injiziert. Nach 48 Stunden wurde ein Hautstück mit der markierten Injektionsstelle im Zentrum entfernt, in Formalin fixiert und daraus histologische Schnitte hergestellt.

6. Kontrollen:

Zur Kontrolle wurde in analoger Weise bei 10 gesunden, nicht hautverbrannten Ratten verfahren. In der Bauchhöhlenflüssigkeit dieser Tiere wurde eine Zellzahl von 8100 Zellen/mm² gefunden. Je 5 gesunden, nicht hautverbrannten Ratten wurde dann 1 ml von dieser Milz- und Peritonealsuspension intravenös in die Schwanzvene injiziert, in der $2,5 \times 10^8$ lebensfähige lymphoide Zellen enthalten waren. Weiter wurde wie bei den verbrannten Ratten verfahren.

C. Ergebnisse.

I. Erzeugung einer Allergie vom verzögerten Typ bei Ratten nach Hautverbrennung von 20% der Körperoberfläche.

Von 64 nach der Verbrennung noch lebenden Versuchstieren zeigten mehr als 50 nach intradermaler Injektion von Antigenextrakten aus der eigenen verbrannten Haut, aus homologer verbrannter Haut, aus normalem Nierengewebe und aus nekrotischem Nierengewebe makroskopisch eine fühlbare Induration ohne Erythem. Bei der anhand der mikroskopischen Untersuchung vorgenommenen Bewertung von den exstirpierten Hautstellen ergaben sich jedoch im einzelnen folgende Ergebnisse, die aus Tabelle 1 zu ersehen sind (Abb. 1 u. 2).

II. Homologe Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ gegen Verbrennungsantigen aus Hautextrakten von hautverbrannten Ratten auf nicht hautverbrannte Ratten durch lebensfähige Milz- und Peritonealzellen.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, war bei allen 5 Tieren unter Verwendung unseres Reaktionsschemas die Reaktion dreifach positiv; makroskopisch fiel eine Induration auf (Abb. 3 u. 4). Bei 5 Kontrolltieren, die ebenfalls eine intravenöse Injektion von lymphozytären Zellen gesunder, nicht hautverbrannter Ratten erhalten hatten, ließ sich in keinem Fall eine derartige Reaktion nachweisen.

Eine Übersicht über den Ausfall der verschiedenen Hautreaktionen bei Erzeugung der Allergie vom verzögerten Typ und beim Übertragungsversuch zeigt Tabelle 3.

Tabelle 1: (Ausgetestete Tiere und Kontrolltiere)

Hautverbrannte Tiere, getestet mit folgenden Extrakten:					
Tier Nr.:	Autologes Verbrennungs-Extrakt-Ag.	Tier Nr.:	Autologes Verbrennungs-Extrakt-Ag.	Tier Nr.:	Poolextrakt aus normaler Haut
426	L	442	+++	457	L
427	++	443	+	458	0
428	++	444	++	459	++
429	++	445	++	460	++
430	++	446	+++	461	+++
431	+	448	+	462	0
433	+++	449	+++	463	+++
434	++	450	++	464	++
435	+	451	++	465	0
437	++	453	++	466	0
438	+++	454	++		
439	++	455	0		
440	+				

Mikrosk. Bewertung der Hautreaktionen: 0 = Keine Reaktion im Sinne des verzögerten Typ.
 + = vereinzelte Venen und Venolen sind mit einem dichten Mantel aus monozyt. Zellen umgeben.
 ++ = wie bei +, jedoch mit beginnender diff. Zellinfiltration bei ödematöser Cutis u. Subcutis.
 +++ = wie bei +, jedoch mit dichter diff. Zellinfiltration bei ödematöser Cutis u. Subcutis.
 L = leukozytäre Reaktion.

Fortsetzung Tabelle 1:

Hautverbrannte Tiere, getestet mit folgenden Extrakten:						Nicht verbrannte Tiere, getestet mit:	
Tier Nr.	Poolextrakt aus normalen Niere	Tier Nr.	Poolextrakt aus nekrotisch. Niere	Tier Nr.	Poolextrakt aus allen verbr. Häuten	Tier Nr.	Poolextrakt aus allen verbr. Häuten
469	+++	479	L	489	++	1146	0
470	++	480	0	490	++	1147	0
471	0	481	0	491	+++	1148	0
472	L	482	L	492	++	1149	0
474	++	483	L	493	+	1150	0
475	+	484	++	494	L		
476	0	485	L	495	++		
477	0	486	L	496	L		
478	++	487	++	497	+		
		488	L	498	++		

Tabelle 2: (Übertragungsversuch)

Normale, nicht hautverbrannte Tiere nach Injektion von:				
Tier Nr.:	2,5 x 10 ⁸ lymphoiden Zellen i.v. von verbrannten Tieren und i.d.-Injektion des Pool-extraktes aus verbrannter Haut	Tier Nr.:	2,5 x 10 ⁸ lymphoiden Zellen i.v. von nicht hautverbrannten Tieren und i.d.-Injektion des Pool-extraktes aus verbrannter Haut	
1	+++	6	0	
2	+++	7	0	
3	+++	8	0	
4	+++	9	0	
5	+++	10	0	

Mikroskopische Beurteilung der Hautreaktionen wie bei Tabelle 1.

Tabelle 3:

Tiere mit Verbrennung von 20% der Körperoberfläche										Normal- tiere (nicht hautver- brannte Tiere	Normal- tiere nach i.v.-In- jekt.von Peritoneal- u.Milz- zellen vor- verbrann- ten Tieren	Normal- tiere nach i.v.-In- jekt.von Peritoneal- u.Milz- zellen vor- verbrann- ten Tieren
Zahl der Tiere	26	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5	5
nach In- jektion von	autologes Verbren- nungs- Extrakt	Pool- extrakt aus norm. Haut	Pool- extrakt aus nekr. Niere	Pool- extrakt aus norm. Niere	Pool- extrakt aus verbr. Haut	Pool- extrakt aus verbr. Haut	Pool- extrakt aus verbr. Haut	Pool- extrakt aus verbr. Haut	Pool- extrakt aus verbr. Haut	Pool- extrakt aus verbr. Haut	Pool- extrakt aus verbr. Haut	Pool- extrakt aus verbr. Haut
Reaktion wie bei verz.Type	24	9	2	5	8	-	-	-	-	-	-	-
Leukozyt. Reaktion	1	1	6	1	2	-	-	-	-	-	-	-
Keine Reakt.	1	-	2	4	-	5	-	-	-	5	-	5

Übersicht über den Ausfall der verschiedenen Hautreaktionen bei Erzeugung der Allergie vom verzögerten Typ und beim Übertragungsversuch.

Abb. 1: Versuchstier Nr. 433

(Hautverbrennung von 20% der Körperoberfläche). Reaktion in einer nicht verbrannten Hautstelle 24 Stunden nach i.d.-Injektion eines Extraktes aus der verbrannten Haut des gleichen Tieres.

Bei a. eine erweiterte Vene,

bei b. fast granulomähnliche, rundzellige Infiltrate.

Hämatoxilin-Eosin (=HE)

Vergr.: 160 x.

Abb. 2: Kontrolltier Nr. 1147

(Ohne Hautverbrennung). Keine Hautreaktion 24 Stunden nach i.d.-Injektion eines Poolextraktes aus verbrannter Haut.

HE.

Vergr. 64 x.

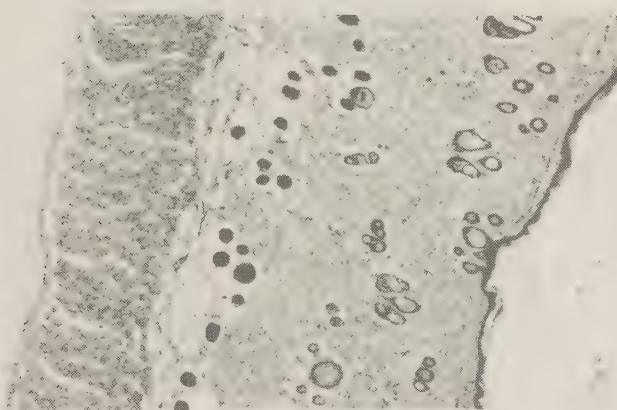
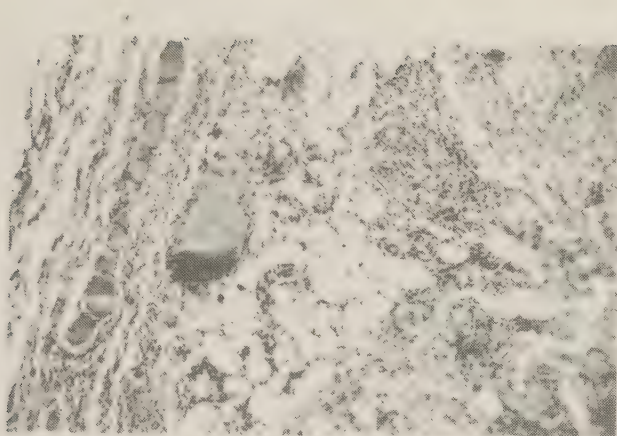


Abb. 3: Versuchstier Nr. 1

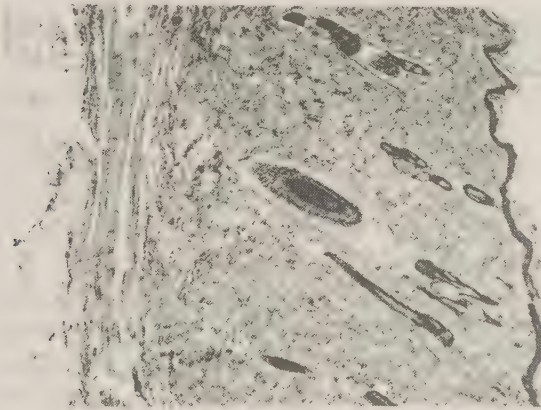
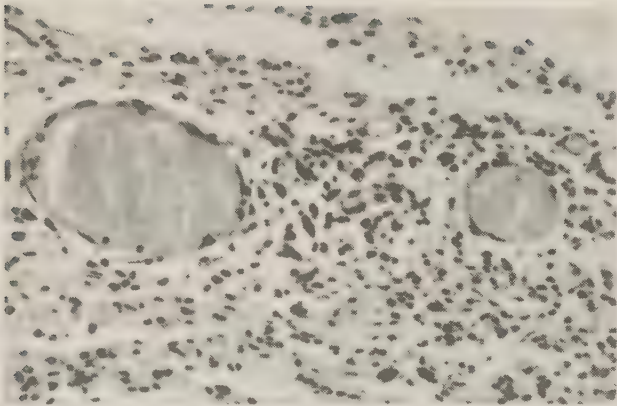
Hautreaktion nach 48 Stunden bei einem nicht hautverbrannten Tier nach i.v.-Injektion von gepoolten Milz- und Peritonealzellen von hautverbrannten Versuchstieren und i.d.-Injektion von Poolextrakt aus verbrannter Haut.
HE.

Vergr.: 400 x.

Abb. 4: Versuchstier Nr. 6

Keine Hautreaktion nach 48 Stunden bei einem nicht hautverbrannten Tier nach i.v.-Injektion von gepoolten Milz- und Peritonealzellen von nicht hautverbrannten Tieren und i.d.-Injektion von Poolextrakt aus verbrannter Haut.
HE.

Vergr.: 64 x.



D. Besprechung:

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen rief die am 21. Tage nach der Verbrennung vorgenommene intradermale Injektion eines autologen Extraktes der verbrannten Haut und eines Poolextraktes aus allen verbrannten Häuten bei 32 von 36 hautverbrannten Tieren eine Reaktion an der Injektionsstelle hervor, die etwa nach 4 Std. beginnt, sich bis 24 Std. nach der Injektion verstärkt und hauptsächlich aus einer Induration ohne wesentlichem Erythem besteht. Mikroskopisch gleicht diese Injektionsstelle mit dilatierten Gefäßen, Lymphozyten und mononucleären Zellen dem Bild einer Reaktion vom verzögerten Typ. Bei 3 der Versuchstiere fand sich allerdings eine leukocytaire Reaktion, wie man sie bei bakteriellen Infektionen vorfindet; solche Entzündungserscheinungen überdecken aber die eigentliche, erwartete Reaktion, so daß diese nicht bestimmbar ist. 1 Tier ließ jegliche Reaktion vermissen.

Bei einem Teil der hautverbrannten Versuchstiere, bei denen statt eines wässrigen Extraktes aus verbrannter Haut Poolextrakte aus normalem Körpergewebe (Nierengewebe und Haut) oder Extrakte aus nekrotischem Nierengewebe injiziert worden waren, kam es ebenfalls zu einer solchen Reaktion vom verzögerten Typ, und zwar am häufigsten nach Injektion von Poolextrakt aus normaler Haut. Allerdings war verständlicherweise bei Verwendung von Poolextrakten aus nekrotischem Nierengewebe eine höhere Zahl von leukozytären Reaktionen feststellbar, offenbar infolge der Wirksamkeit eines Nekrotoxins. Es kann also festgehalten werden, daß auch bei Ratten eine Hautreaktion mit lymphozytären Zellen (Reaktion vom verzögerten Typ) nach intradermaler Injektion eines wässrigen Extraktes aus verbrannter Haut hervorgerufen werden kann, die bei nicht verbrannten Tieren ausbleibt. Gleichfalls wie bei HAFERKAMP u. Mitarb. (1965) gelang auch die Übertragung der Bereitschaft zu solch einer Reaktion auf gesunde, nicht hautverbrannte Ratten, was eben für die Annahme einer Allergie vom verzögerten Typ spricht, die offenbar auf einer Überempfindlichkeit gegen ein bisher noch nicht näher definiertes Antigen (Antigene) in den Extrakten beruht.

Zusätzlich neu war an der vorliegenden Arbeit, daß bei dem Übertragungsversuch die Methode nach LANDSTEINER und CHASE (1942) angewandt wurde (Zellen i.v., Antigen i.d.; Zellen von mehreren Spendern) im Gegensatz zu HAERKAMP u. Mitarb. (1965), die die Methode nach METAXAS und METAXAS-BUEHLER (1948) anwandten (Zellen i.d., Antigen i.v.; nur jeweils ein Zellspender). Bei letzterer Übertragungsart werden zwar wesentlich weniger lebensfähige Zellen benötigt, die System-Übertragung nach LANDSTEINER und CHASE bietet jedoch gewissermaßen eine Vorbedingung für die Annahme einer Allergie vom verzögerten Typ.

Überschaut man nun weiter die Ergebnisse nach der Injektion der verschiedenen Antigene (Poolextrakt aus normaler Haut, normalem Nierengewebe, nekrotischem Nierengewebe) bei den verbrannten Tieren, so ist man nicht in der Lage, von einer verbrennungsspezifischen Überempfindlichkeitsreaktion zu sprechen. Hierfür wäre nämlich zu fordern, daß bloß das Extraktantigen (Antigene) aus der verbrannten Haut die hier in Rede stehende Hautreaktion auslösen kann. Es besteht allerdings noch die Möglichkeit, daß die Reaktion gegen ein Antigen (Antigene) gerichtet ist, das allen verwandten Extrakten gemeinsam und bloß in dem Extrakt aus verbrannter Haut am reichlichsten vorhanden ist. Als Modell könnte hier die Untersuchung von KANO und MILGROM (1967) dienen, die im Serum von Meerschweinchen nach Verbrennung einen humoralen Anti-Gamma-Globulin-Faktor (Antikörper gegen Gamma-Globulin) nachweisen konnten. Es wäre möglich, daß die hier beschriebene Allergie (Überempfindlichkeit) vom verzögerten Typ mit den zellgebundenen Überempfindlichkeitsfaktoren ("zellgebundene Antikörper") auch gegen ein Gamma-Globulin in den Antigenextrakten gerichtet ist.

E. Zusammenfassung.

Eine Reaktion vom verzögerten Typ gegen einen wässrigen Extrakt aus verbrannter Haut ist auch bei Ratten nach Verbrennung von 20% der Körperoberfläche hervorzurufen. Diese Reaktion fehlt bei nicht hautverbrannten Ratten, sie ist aber auch auszulösen bei verbrannten Tieren durch Extrakte aus normaler Haut, normalem Nierengewebe und nekrotischem Nierengewebe. Zur Erklärung könnte angenommen werden, daß in allen verwandten Extrakten ein gemeinsames Antigen (Antigene) vorhanden ist. Es war möglich durch Peritonealzellen und lymphoide Milzzellen von verbrannten Tieren nach der Methode von LANDSTEINER und CHASE (1942) die Bereitschaft zu dieser Reaktion von verbrannten auf gesunde, nicht verbrannte Tiere zu übertragen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1.) Allgöwer, M. und J. Siegrist: Verbrennungen: Pathophysiologie - Pathologie - Klinik - Therapie.
Berlin-Göttingen-Heidelberg:
Springer 1957

- 2.) Artz, C.P.: Burn infections. Southern Med.J.
56, 1071-1074 (1963)

- 3.) Benacerraf, B. and R.T. McCluskey: Methods of immunologic Injury to Tissues. Ann. Rev. Microbiol.
17, 263-281 (1963)

- 4.) Burri, C. und M.Allgöwer: Intestinale Faktoren im Verbrennungsschock. Zschr. Ges.exp. Med. 139, 189-199 (1965)

- 5.) Feodorov, N.A.: Über die Verbrennungskrankheit. Tez. Dokl. 2-j, Vsesojuzn.konf. pathofiziol.,Kiev (1956)

- 6.) Haferkamp, O.: Experimentelle immunhistologische Untersuchungen über die Verbrennungskrankheit. Langenbecks Arch. klin.Chir. 301, 118-122 (1962)

- 7.) --- M.Hendriquez, G.Finger F. Martinez und M. Yoshida unter technischer Mitarbeit von H. Wegener: Experimentelle Untersuchungen zur pathogenen Bedeutung von spezifischen Iso- und Autoantikörpern nach Verbrennung. Virchows Arch. path.Anat. 337, 65-87 (1963)

- 8.) --- H. Schäfer, H. Asamer, Experimentelle Untersuchungen über
G. Finger und eine Reaktion vom verzögerten Typ
H. Wegener: nach Verbrennung und ihre homologe
Übertragung. Virchows Arch. path.
Anat. 338, 261-276 (1965)
- 9.) Heyde und Vogt: Studien über die Wirkung des asep-
tischen chirurgischen Gewebszer-
falles und Versuche über die Ur-
sache des Verbrennungstodes.
Z.ges.exp.Med. 1, 59-104 (1913)
- 10.) Jeanjean, M. et A. Simonart: Infection et toxicite de l'oedeme
de brulure. Rev. Belge. Path.
28, 397-406 (1962)
- 11.) Kano, C. and F. Milgrom: "Heterophile" and Anti-globulin
Factors in Sera of Burned Guinea
Pigs. Pers. Mitteilungen.
- 12.) Landsteiner, K. und M.W. Experimental transfer of cutaneous
Chase: sensivity to simple compouns.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 49,
688-690 (1942)
- 13.) Letterer, E.: Die allergisch-hyperergische Ent-
zündung. In: Handbuch der allge-
meinen Pathologie, Bd. 7, Teil 11,
S.: 497-600. Berlin-Göttingen-
Heidelberg: Springer 1956
- 14.) Metaxas, M.N. und Passive transfer of local cutaneous
M. Metaxas-Buehler: hypersensitivity to tuberculin. Proc.
Soc.exp.Biol.(N.Y.) 69, 163-165
(1948)

- 15.) Packova, L., J. Dolezalova and Z. Konokova: Immunological changes in the serum of patients with severe burns. Rev.Czechosl.Med.XI. 2, 91-103 (1965)
- 16.) Peyrer, K.: Zur Frage der Zerfallstoxikosen. Wien.klin.Wschr. 49, 868-870 (1923)
- 17.) Rudnickaja, M.Z. und S.V.Surkovic: Elektrophoretische Untersuchungen von Verbrennungs-Antiserum. Pat. fizioł.eksp.Ter. 6, 84 (1962)
- 18.) Schmidt, H.: Fortschritte der Serologie. 2 Aufl. Verlag: Dr. Dietrich Steinkopff Darmstadt.
- 19.) Sobbe, A. und O.Haferkamp: Über die homologe Übertragung der Tuberkulinallergie bei Ratten. Zschr.klin.Immunol. 132, 345-351 (1967)
- 20.) W. Vogel, B.Heymer, Th.B.Smith und O.Haferkamp: Über die Bildung und Bedeutung antibakterieller Antikörper nach Verbrennung. Virchows Arch. path. Anat. 341, 327-339 (1966)

Herrn Professor Dr. H. H a m p e r l und
Herrn Professor Dr. O. H a f e r k a m p danke
ich ergebenst für die liebenswürdige Überlas-
sung des Themas und die stete Hilfe und Bera-
tung bei der Abfassung der vorliegenden Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 29. 12. 1937 wurde ich als Sohn des Theobald Graf von Westphalen und seiner Gattin Josefine, geb. Gräfin Hartig, in Teplitz-Schönau geboren.

Im März 1959 legte ich am Gymnasium in Warburg/i.W. die Reifeprüfung ab. Von Mai 1959 bis August 1962 studierte ich an der Universität Bonn Medizin, anschließend ein Semester in München und ein Semester in Wien. Im August 1965 legte ich in Bonn das Staatsexamen ab. Von Oktober 1965 bis Dezember 1966 arbeitete ich als Medizinalassistent im Kreiskrankenhaus Simbach / Inn. Seit Januar 1967 bin ich im Pathologischen Institut der Universität Bonn tätig.

